



Fabrice Gascons Viladomat,
Gérant et cofondateur d'Ederna,
docteur de l'INA PG et ingénieur
de l'ENSCM.



Benjamin Percheron,
Ingénieur d'affaires junior chez Ederna,
ingénieur biochimiste de l'Insa à Toulouse.

L'évaporation osmotique : une nouvelle alternative pour la concentration des biomolécules

par Fabrice Gascons Viladomat et Benjamin Percheron

« En raison d'un phénomène de polarisation de concentration, un gel peut se former à la surface des membranes, limitant ainsi les performances des technologies d'ultrafiltration »

Désormais en marche vers un idéal de société fortement orienté vers le développement durable et l'utilisation des matières premières renouvelables, la synthèse chimique cède progressivement aujourd'hui sa place aux nouveaux procédés mettant en oeuvre des produits d'origine biologique pour les traitements thérapeutiques innovants de demain.

Le secteur des biotechnologies est une industrie en pleine effervescence et connaît une croissance stable et durable. La connaissance et la maîtrise des bioprocédés qui caractérisent la complexité du secteur sont devenues indispensables pour créer de nombreux produits ayant des applications thérapeutique ou diagnostique. L'évolution de la biologie et de l'ingénierie s'est appuyée sur de nouvelles solutions techniques comme la chromatographie ou l'électrophorèse. Aujourd'hui, l'optimisation des bioprocédés exige non seulement un approfondissement des connaissances mais également la mise au point d'outils technologiques particulièrement pointus.

Au sortir d'une bioproduction, et après différentes étapes de purification, les molécules d'intérêt thérapeutique sont généralement diluées en phase aqueuse. Dès lors, les étapes finales de concentration nécessitent

des méthodes adaptées aux spécificités de chaque molécule. Pour se faire, les technologies actuelles offrent de nombreuses possibilités à l'échelle du laboratoire mais toutes n'ont pas la possibilité d'être déployées à des échelles industrielles. Ces étapes de montée en échelle peuvent alors devenir complexes et présenter de multiples obstacles.

En parallèle, le durcissement de la réglementation et des normes environnementales en vigueur comme la directive européenne sur les émissions de COV (composés organiques volatils), la réglementation générale de retraitement des déchets organiques ou les normes à venir sur l'efficacité énergétique des procédés industriels, nécessitent que la recherche et l'innovation soient tournées vers des procédés à la fois performants et respectueux de l'écologie. A ceci s'ajoute enfin une forte pression concurrentielle qui oblige les laboratoires industriels à limiter les coûts de leur process de production.

Parmi les procédés dits « downstream », les méthodes de concentration suivantes sont généralement employées :

- L'ultrafiltration

Les molécules sont purifiées selon leur poids moléculaire et le seuil de coupure des membranes utilisées. Très répandue pour la purification de molécules de poids moléculaire élevé, cette technologie est plus difficile à mettre en oeuvre avec des petits métabolites (vitamines, antibiotiques,...) ou des produits particulièrement sensibles au cisaillement comme les cellules de mammifères ou de nombreuses protéines recombinantes. En raison d'un phénomène de polarisation de concentration, un gel peut se former à la surface des membranes, limitant ainsi les performances de la technologie. De surcroît, certains composés, notamment des protéines membranaires et certaines particules virales, présentent de fortes affinités pour le maté-

riau constituant la membrane, conduisant à des pertes significatives de produit lors de cette étape ; jusqu'à 50% sur des vecteurs viraux par exemple.

- L'évaporation sous vide

Souvent utilisée au laboratoire, ce système simple permet de diminuer l'impact de la température sur un produit et limiter ainsi sa dénaturation sans pour autant garantir son intégrité. Il est en effet possible de constater une perte d'activité sur certains produits thermosensibles tels que les anthocyanes, les acides aminés, les vitamines et certaines protéines alors que des phénomènes d'agrégation ou de formation de mousse peuvent également être observés

- La centrifugation sous vide

Des outils développés pour la petite échelle couplent astucieusement la centrifugation à une pompe à vide et permettent d'évaporer de nombreux types de solvants. Un condenseur est généralement placé entre la pompe à vide et la chambre de centrifugation afin de collecter les solvants évaporés. Le couplage de ces phénomènes permet de générer un gradient de pression dans l'échantillon, ce qui optimise le contrôle de l'évaporation. Performants et optimisés pour la concentration de faibles volumes, leur utilisation devient difficilement envisageable à plus grande échelle. En effet, la force centrifuge et le vide nécessaires à l'opération conduiraient, dans le cas d'une montée en échelle, à des procédés trop énergivores et trop encombrants

- La lyophilisation

Ce procédé industriel peut être opéré à différentes échelles et notamment sur des volumes importants. Il permet également à beaucoup de laboratoires (bio)pharmaceutiques de réaliser l'étape de « fill and finish », c'est à dire de grouper les dernières étapes de formulation et de conditionnement aseptique. Les températures atteintes au cours de ce procédé sont très basses (jusqu'à -80°C) ce qui peut entraîner une dégradation des molécules d'intérêt, et par conséquent une perte d'activité alors que d'importantes dépenses énergétiques ont été nécessaires. Enfin, cette technologie offre de faibles flux conduisant à une faible productivité. En effet, un flux de vapeur trop élevé risque d'emporter avec lui le produit que l'on cherche à valoriser. Un cycle trop court laissera trop d'eau dans le produit, qui pourra être dégradé lors de la dessiccation secondaire.

Une alternative technologique

Depuis une quinzaine d'années l'évaporation osmotique est un phénomène étudié par de nombreuses universités et instituts de recherche dans plusieurs pays. Toutefois, peu d'applications en matière de technologies de concentration ont été rendues accessibles jusqu'à présent.

Pour palier à ce manque de polyvalence des techniques utilisées aujourd'hui et dépasser ainsi ces limites, une solution alternative a été mise au point permettant d'évaporer l'eau sans chaleur ni pression. Cette innovation, baptisée evapeos®, fait l'objet aujourd'hui de deux brevets.

Le principe repose sur la diffusion de l'eau au travers d'une fibre creuse hydrophobe poreuse. En circulant à l'intérieur de celle-ci, l'eau contenue à l'état liquide dans le produit à concentrer va diffuser et s'équilibrer sous forme gazeuse dans la porosité de la fibre. Un agent osmotique formulé à cet effet circule à l'extérieur de la fibre et capte



Schéma en coupe du transfert d'eau au sein d'une fibre creuse
Crédit : Ederna.

l'eau présente dans la porosité. L'équilibre liquide-vapeur est ainsi déplacé afin de maintenir un flux d'extraction d'eau élevé. L'agent osmotique permettant de stocker l'eau extraite est facilement éliminé ou recyclé selon les quantités considérées.

La technologie evapeos® permet ainsi de concentrer des échantillons aqueux dans des conditions douces de température (entre +4 et 37°C) et de pression (pression atmosphérique). L'activité des molécules en solution est alors totalement préservée.

Deux outils permettent de mettre en oeuvre la technologie à l'échelle du laboratoire :

- un kit se présentant sous la forme d'une cartouche de fibres creuses et de 4 seringues permettant la manipulation des solutions pour traiter des échantillons dans des conditions variées (sous hôte stérile, en chambre thermostatée...) jusqu'à 60 ml,

- une unité automatisée, utilisant la même cartouche de fibres creuses, traite des échantillons jusqu'à 1 litre par manipulation. L'acquisition des données en temps



réel permet de préparer le dimensionnement des pilotes industriels pour une intégration optimale du procédé. C'est à ce stade que l'expertise de l'équipe Ederna permet d'étudier les paramètres du procédé et de réaliser des études de montée en échelle dans le laboratoire de la société.

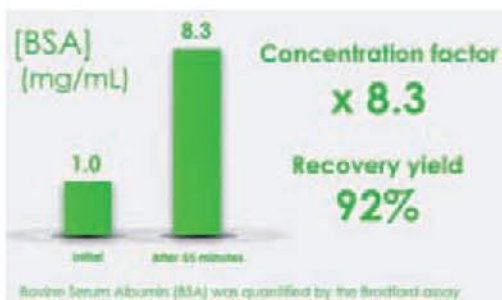
Ces systèmes, faciles d'utilisation, permettent de réaliser rapidement une opération de concentration d'un échantillon par évaporation. Le processus est en mesure de traiter aussi bien des molécules de petites tailles comme des nucléotides, des antibiotiques... et des tailles plus importantes, notamment les protéines, les virus...

Les performances attendues peuvent s'exprimer à la fois :

- d'un point de vue qualitatif avec une meilleure préservation des actifs en lieu et place de systèmes faisant intervenir le vide et/ou la chaleur,
- d'un point de vue quantitatif puisque la productivité peut être multipliée jusqu'à 20 fois en comparaison d'un procédé de lyophilisation ; une entreprise travaillant sur la production d'antibiotiques a ainsi pu concentrer ses échantillons en 2h avec l'unité evapeos® contre 48h par lyophilisation
- et d'un point de vue environnemental en raison de l'absence de solvant ainsi que de moindres dépenses énergétiques engagées par ce processus.

Comme l'illustre la figure suivante, des molécules comme l'albumine sérique bovine (BSA) ont pu être ainsi concentrées avec de très bons résultats. Les applications potentielles de la technologie sont au nombre des problématiques existantes :

Les nombreux travaux menés dans le domaine de la recherche sur la technologie



Résultat de la concentration d'une solution de 50 ml de BSA par evapeos® lab kit
Crédit : Ederna.

de l'évaporation osmotique et de ses applications sont une preuve du potentiel d'utilisation du procédé. L'offre technique et commerciale développée par Ederna permet d'accélérer sa propagation et de la confronter aux technologies actuelles. Les utilisateurs rencontrés ont tous montré leur besoin d'optimisation et d'amélioration des procédés « downstream ». La solution présentée dans cet article se positionne comme une alternative émergente pouvant apporter des réponses à des problématiques industrielles actuelles.

1) Fabrice Gascons Viladomat a créé la société Ederna en 2007 après un post-doc au Laboratoire de Génie Chimique de Toulouse et une thèse conduite dans les laboratoires de l'INRA où il a étudié la technologie des contacteurs membranaires, dont l'évaporation osmotique est une application.

2) Ederna est aujourd'hui une jeune entreprise innovante hébergée sur l'Oncopôle de Toulouse, berceau de la recherche dans les sciences de la vie en Midi-Pyrénées. En qualité de lauréat du concours national d'aide à la création d'entreprises de technologies innovantes (CETI) en 2008, la société a eu l'opportunité de développer son savoir-faire et de proposer des outils adaptés aux problématiques notamment des utilisateurs en biotechnologies. La société est agréée au crédit d'impôt recherche.

« L'acquisition des données en temps réel permet de préparer le dimensionnement des pilotes industriels pour une intégration optimale du procédé »

www.biotechactualites.com

(nouvelle version en septembre 2011)

- Pour publier gratuitement vos offres d'emploi sur Internet, contactez le 01 47 47 04 17
- Pour voir les offres d'équipements biotech, cliquez sur Actualités / Equipements
- Pour connaître l'actualité des régions en biotech, cliquez sur Société / Biopôles et régions.

Abonnement

Le 1er magazine en France dédié aux biomolécules et au process biotechnologique



Offre d'abonnement

Oui, je souhaite m'abonner au magazine Biotechs Actualités Pharma, soit 4 numéros par an, incluant le spécial Biotechnologies France - Belgique - Suisse, au prix de 360 € TTC.

Société :

Nom et prénom :

Adresse :

Code postal :

Ville :

Pays :

Tél. :

Fax :

Mail :

Spécial Biotechs France - Belgique - Suisse + coordonnées complètes + produits en clinique + activités R&D



Coupon à faxer au 00 33 (1) 47 47 12 97

